

106



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

24

FACULTAD DE QUIMICA

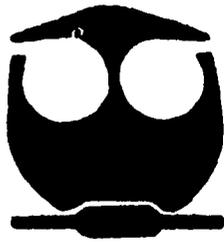


EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

Aeromonas hydrophila CAUSANTE DE
PADECIMIENTOS DIARREICOS



TRABAJO ESCRITO
VIA CURSOS DE EDUCACION CONTINUA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
LETICIA ROSAS RANGEL



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidentes: Profra. ELDA B. PENICHE QUINTANA
Vocales: Profra. MARIA ELSA EBCUDERO GARCIA
Secretarios: Prof. RAUL GARZA VELASCO
1er. Suplente: Profra. ADRIANA GUADALUPE MEJIA CHAVEZ
2do. Suplente: Profra. NORMA ANGELICA CASTELLANOS CHAVEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:
Diversas bibliotecas.

ASESOR DEL TEMA:



G.F.B. ELDA B. PENICHE QUINTANA

SUSTENTANTE DEL TEMA:



LETICIA ROSAS RANGEL

D E D I C A T O R I A S :

**A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE ME
BRINDARON SU APOYO PARA LA CULMINA-
DE MI CARRERA PROFESIONAL.**

**CON UN AGRADECIMIENTO MUY ESPECIAL
PARA LA MAESTRA Q.F.B. ELDA PENICHE
QUINTANA POR SU GRAN PACIENCIA Y
ATINADA GUIA EN LA REALIZACION DE
ESTE TRABAJO.**

LETICIA ROSAS RANGEL.

Aeromonas hydrophila causante de padecimientos diarreicos

C A P I T U L O I

I.- GENERALIDADES DE *Aeromonas hydrophila*

- 1.1. Taxonomía.
- 1.2. Morfología.
- 1.3. Productos celulares.
- 1.4. Composición química y antigenicidad.
- 1.5. Requerimientos nutricionales y métodos de identificación.
- 1.6. Vías de transmisión.

II.- PATOGENICIDAD

- 2.1. Mecanismos de patogenicidad.
 - 2.1.1. Adherencia a células blanco.
 - 2.1.2. Producción de toxinas.
 - 2.1.3. Otros.
- 2.2. Enfermedades gastrointestinales causadas en el humano.

III.- DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

- 3.1. Microbiológico.
- 3.2. Inmunológico.
 - Reacciones de precipitación.
 - Reacciones de aglutinación.
- 3.3. Otros.

IV.- TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL.

CONCLUSIONES.

BIBLIOGRAFIA.

OBJETIVOS:

- Revisar la bibliografía especializada que establece a *Aeromonas hydrophila* como agente etiológico de padecimientos diarreicos.
- Establecer sus características fisiológicas y bioquímicas.
- Describir las principales metodologías para el diagnóstico, aislamiento, identificación y tratamiento de *Aeromonas hydrophila*.

***Aeromonas hydrophila* causante de padecimientos diarreicos**

C A P I T U L O I

I.- GENERALIDADES DE *Aeromonas hydrophila*

- 1.1. Taxonomía.
- 1.2. Morfología.
- 1.3. Productos celulares.
- 1.4. Composición química y antigenicidad.
- 1.5. Requerimientos nutricionales y métodos de identificación.
- 1.6. Vías de transmisión.

II.- PATOGENICIDAD

- 2.1. Mecanismos de patogenicidad.
 - 2.1.1. Adherencia a células blanco.
 - 2.1.2. Producción de toxinas.
 - 2.1.3. Otros.
- 2.2. Enfermedades gastrointestinales causadas en el humano.

III.- DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

- 3.1. Microbiológico.
- 3.2. Inmunológico.
 - Reacciones de precipitación.
 - Reacciones de aglutinación.
- 3.3. Otros.

IV.- TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL.

CONCLUSIONES.

BIBLIOGRAFIA.

CAPITULO 1

I GENERALIDADES DE *Aeromonas hydrophila*.

1.1. Taxonomía del género *Aeromonas*.

Este género fue primeramente descrito por Kluyver y van Niel en 1936 quienes reconocieron a una bacteria a la cual le dieron el nombre de *Aeromonas liquefasciens*, el género fue más tarde estudiado por Miles & Miles en 1951 quienes llegaron a la conclusión de que si la producción de butanediol a partir de la fermentación de la glucosa se establecía como característica de un grupo homogéneo, el género *Aeromonas* debía ser aceptado.

En la actualidad, los miembros del género *Aeromonas* están ahora claramente diferenciados de las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y de los miembros del género *Pseudomonas* y *Vibrio*; sin embargo, la clasificación de las especies y subespecies de este género no está plenamente establecida debido a que existe una marcada discrepancia entre los diferentes investigadores de dicho género. Para Popof (51),(53), todas las especies conocidas como móviles: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae* deberían agruparse en un sólo grupo; en cambio, la clasificación hecha por Schubert (59) que está registrada en la 8a. edición del Manual de Bergey establece las siguientes especies y subespecies:

E s p e c i e :

1.- *Aeromonas hydrophila*

Subespecie:

- a) *hydrophila*
- b) *anaerogenes*
- c) *proteolytica*.

2.- *Aeromonas punctata*

- a) *punctata*
- b) *caviae*

3.- *Aeromonas salmonicida*

- a) *salmonicida*
- b) *achromogenes*
- c) *masoucida*

Al realizar Popof estudios taxonómicos posteriores, la

clasificación anterior sufrió variaciones en el Manual de Bacteriología Sistemática (52) quedando como sigue:

E s p e c i e :

Subespecie:

- 1.- *Aeromonas hydrophila*
- 2.- *Aeromonas sobria*
- 3.- *Aeromonas caviae*
- 4.- *Aeromonas salmonicida*
 - a) *salmonicida*
 - b) *masoucida*
 - c) *achromogenes*.

A *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* y *Aeromonas caviae* se les conoce como mesófilas, así como a *Aeromonas salmonicida* y a sus tres subespecies, como psicrófilas.

En los últimos años se ha propuesto la inclusión de nuevas especies y subespecies dentro de este género.

Sin embargo, las especies o feno-especies antes mencionadas no reflejan la complejidad genética de este género que a su vez se le ha clasificado en 12 geno-especies o grupos de hibridación del ADN que son los siguientes (2):

- DHG 1: *Aeromonas hydrophila*
- DHG 2: *Aeromonas hydrophila*
- DHG 3: *Aeromonas hydrophila* y *Aeromonas salmonicida*
- DHG 4: *Aeromonas caviae*
- DHG 5A: *Aeromonas caviae*
- DHG 5B: *Aeromonas caviae* y *Aeromonas media*.
- DHG 6: *Aeromonas eucrenophila*
- DHG 7: *Aeromonas sobria*
- DHG 8: *Aeromonas sobria*
- DHG 9: *Aeromonas sobria*
- DHG 10: *Aeromonas veronii*
- DHG 11: Cepas de *Aeromonas* con características parecidas a las de *Aeromonas veronii*
- DHG 12: *Aeromonas schubertii*

Schubert (58) hizo otra clasificación tomando en cuenta tanto las características fenotípicas como las genotípicas de *Aeromonas*. Estableció 3 grupos, el primero o grupo I incluye a

las especies relacionadas genotípicamente con *Aeromonas sobria*, el segundo grupo o grupo II comprende a las bacterias relacionadas genotípica y fenotípicamente con *Aeromonas sobria* y *Aeromonas veronii* y, por último, el tercer grupo o grupo J, que agrupa a los genotipos de *Aeromonas hydrophila*.

Las clasificaciones antes mencionadas son poco prácticas para los laboratorios clínicos debido a que la mayoría de los sistemas comerciales identifican a las bacterias del género *Aeromonas* en tres especies fenotípicamente separables: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, y *Aeromonas caviae* (3).

En base a estudios genéticos moleculares realizados, se ha propuesto la exclusión del género *Aeromonas* de la familia *Vibrionaceae* para colocarlo en una nueva familia llamada *Aeromonadaceae* (15).

1.2 Morfología..

Por sus características morfológicas, el género *Aeromonas* se ha dividido en dos grupos, uno de ellos incluye a las especies de *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* y *Aeromonas sobria*.

Las especies de este grupo muestran una gran variedad tanto de forma como de tamaño. Algunas células aparecen como bacilos cortos, en cambio, otras se presentan en forma de filamentos delgados. En raras ocasiones muestran una curvatura somática, no tan marcada como en las especies del género *Vibrio*.

Generalmente son células en forma de bacilos con puntas redondeadas. Miden de 0.3μ - 1.0μ de ancho por 1.0μ - 3.5μ de largo. Se agrupan en pares, cadenas cortas o solas. Son Gram negativas (52).

Son células móviles, en medio líquido las bacterias presentan un solo flagelo polar, es decir monotrico; en medio sólido los cultivos jóvenes tienen flagelos peritricos. La longitud del flagelo polar es de 1.7μ . La mayoría de las especies flageladas forman, en cultivos jóvenes, un flagelo polar. Cuando la incubación sobrepasa la fase logarítmica de crecimiento, las células exhiben sólo la flagelación polar (52).

La temperatura óptima de crecimiento de las especies de este

grupo es de 28°C, aunque puede crecer a 50°C. La temperatura máxima de crecimiento es de 38°C a 41°C.

La morfología colonial en agar nutritivo aparece como colonias convexas, con bordes regulares y superficie lisa, translúcidas, de color blanco, su olor varía de extremadamente fuerte a inodoras.

Dentro de este grupo no hay ninguna especie que produzca algún tipo de pigmento.

1.3 Productos celulares.

El género *Aeromonas* produce una gran variedad de productos principalmente extracelulares (24). Por su parte *Aeromonas hydrophila* tiene un perfil extracelular muy parecido al de *Aeromonas sobria* aunque raramente la segunda produce elastasa. Ambas producen enzimas que están relacionadas antigénicamente, entre éstas se encuentran varias hemolisinas y proteasas.

Aeromonas hydrophila produce gelatinasa, desoxirribonucleasa, ribonucleasa y Tween 80-esterasa.

Los productos extracelulares que sintetiza *Aeromonas hydrophila* son los siguientes:

a) Toxinas citolíticas:

α-hemolisina

β-hemolisina (aerolisina)

b) Enterotoxina

c) Endopeptidasa

d) Zinc aminopeptidasa

e) Proteinasa A

f) Proteinasa B

g) Fosfátido acil hidrolasa y glicerofosfolípido colesterol acil/transferasa

h) Esfingomielinasa

i) Enzima fibrinolítica

Otras enzimas que son producidas por esta especie son:

-Factor dermonecrótico

-Proteasas

-Citolisinas

Por un estudio realizado por Waltman y col (65) con el sistema API ZYM. se determinó que dentro de la misma especie de *Aeromonas hydrophila* existen diferencias enzimáticas llegando a los siguientes resultados:

1.- De las 40 cepas estudiadas por los autores antes mencionados, todas carecen de las enzimas: valino aminopeptidasa, cistina aminopeptidasa, quimotripsina, α -manosidasa, α -fucosidasa, α -galactosidasa, β -glucuronidasa.

2.- Todas las cepas examinadas poseían las enzimas: caprilato esterasa-lipasa, leucina aminopeptidasa, fosfatasa ácida, fosfoamidasa y N-acetil- β -glucosidasa.

3.- Hubo una gran variedad en la producción de las siguientes enzimas: fosfatasa alcalina, butirato esterasa, miristato lipasa, tripsina, β -galactosidasa, α -galactosidasa y β -glucosidasa.

1.4 Composición química y antigenicidad.

Dentro de la especie *Aeromonas hydrophila* existen estructuras químicas de gran interés debido al papel que se cree desempeñan en la patogenicidad de las bacterias.

Los fosfolípidos son los componentes principales de la capa que envuelve a la célula, Howard y Buckley (28) determinaron la composición química de los fosfolípidos y encontraron que están constituidos principalmente por fosfatidilglicerol y en menor cantidad por cardiolipina.

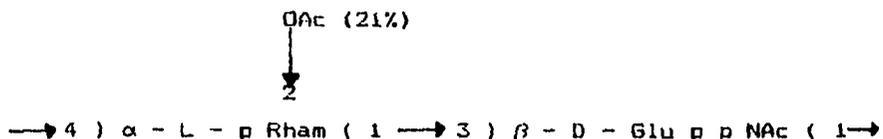
Una característica que distingue a *Aeromonas hydrophila* así como a los demás miembros de este género de la familia *Vibrionaceae* es la ausencia de ácidos grasos ramificados.

Aeromonas hydrophila presenta una estructura química conocida como Capa A o S la cual se estudió primeramente en *Aeromonas salmonicida*. Dooley y col (19) determinaron las características de esta capa, observando que está compuesta por una proteína con arreglo tetragonal llamada proteína A. ésta posee un peso molecular de 50,000 pero debido a que tiende a formar multímeros que tienen un peso molecular de aproximadamente 110,000, se presentaron ciertas dudas respecto al peso molecular real de dicha proteína.

Se ha comprobado que la proteína antes mencionada está involucrada en los mecanismos de patogenicidad de este microorganismo como lo son la adhesión celular y la virulencia, aunque prácticamente sólo se ha comprobado que ésta última se debe a que protege a la célula contra la actividad bactericida del suero.

La relación que existe entre la capa S descrita anteriormente y los lipopolisacáridos, es que estos últimos juegan un papel importante en el embalaje y mantenimiento de la Capa S y ésta, a su vez, contribuye a la homogeneidad del largo de la cadena de los lipopolisacáridos. Además, se ha visto que las cepas que poseen esta capa también poseen lipopolisacáridos de cepas lisas y, por el contrario, las cepas que no poseen O-polisacárido carecen de Capa S. Aunque la mayor parte de las cadenas de O-polisacárido de los lipopolisacáridos parecen estar cubiertas por la Capa S, en las cepas virulentas una parte de dicha cadena penetran esta Capa y se exponen en la superficie de la células.

En otros estudios hechos por Dooley y col (18), hicieron un análisis de diversas cepas de *Aeromonas hydrophila*, encontrando que aquellas con patogenicidad aumentada, producían lipopolisacáridos con cadenas de una extensión homogénea constituidas por O-polisacárido, en la mayoría, el tamaño de la cadena era de aproximadamente diez unidades; para determinar la estructura de ésta se hizo una serie de análisis químicos los cuales revelaron la estructura siguiente:



OAc: grupo sustituyente acetil

Rham: ramnosa

Glu p NAc: glucosa N-acetil glucosamina

Al igual que en *Aeromonas salmonicida*, algunas cepas de

FALLA DE ORIGEN

Aeromonas hydrophila que contienen cadenas de una extensión homogénea, poseen una capa de proteína que es atravesada por cadenas de O-polisacárido, quedando expuestas en la superficie de la célula.

Otras cepas de *Aeromonas hydrophila* muestran cadenas de O-polisacárido de una extensión heterogénea.

Antigenicidad:

Varios autores han intentado la serotipificación del género *Aeromonas* basándose en la heterogenicidad de los antígenos "O" y "H" que tienen cierta reactividad cruzada con cepas de *Plesiomonas shigelloides*.

Según los conceptos habituales del serodiagnóstico bacteriano, el antígeno de superficie celular o del soma celular se llama también "O" (somático) y es la capa de lipopolisacáridos de la pared celular de las bacterias Gram negativas. El lipopolisacárido se parece a una membrana por el hecho de que hay una porción hidrofílica y una hidrofóbica. Como en una membrana plasmática, se forma una capa doble por las asociación de las porciones hidrofóbicas del centro con las porciones hidrofílicas que limitan con el medio acuoso. El lipopolisacárido contiene un núcleo polisacárido que consiste en cetodesoxioctonato, azúcares de siete carbonos (heptosas), glucosa, galactosa y N-acetilglucosamina. En conexión con el núcleo hay el llamado O-polisacárido y que normalmente contiene galactosa, glucosa, ramosa y manosa, y, generalmente, uno o más azúcares didesoxi poco corrientes tales como la abecusosa, colitosa, paratosa o tivelosa. Estos azúcares están conectados en secuencia de cuatro o cinco azúcares (a menudo ramificados) que se repiten para formar el largo O-polisacárido. La estructura del lípido es menos conocida. No es un lípido glicérico normal, sino que los ácidos grasos están conectados por un enlace estérico a la N-acetilglucosamina. Los ácidos grasos encontrados frecuentemente en el lípido incluyen los ácidos β -hidroximirístico, laurico, mirístico y palmítico.

En general, en *Aeromonas* y, principalmente en la especie

FALLA DE ORIGEN

Aeromonas hydrophila, se ha estudiado la estructura del lipopolisacárido (18),(39). Se vio que está constituido por: polisacárido (SR), un núcleo oligosacárido y un lípido A; carece de O-polisacárido específico y de ácido 3-desoxi-D-manoctulosónico. La composición del núcleo es de: D-galactosa, D-glucosa, D-glicero-D-manoheptosa, L-glicero-D-manoheptosa y de D-glucosamina en una relación molar de 1 : 1 : 2 : 4 : 1. La unión que forma la glucosamina y la L-glicero-D-manoheptosa es resistente a las hidrólisis comunes.

1.5 Requerimientos nutricionales y métodos de identificación.

Todos los sistemas biológicos, desde microorganismos hasta el hombre, comparten una serie de exigencias nutricionales con respecto a los compuestos químicos necesarios para su crecimiento y funcionamiento normal. Dentro de las exigencias nutricionales, las bacterias requieren de carbono, nitrógeno, azufre, etc. En el Manual de Bacteriología Sistemática (52) se reportan como compuestos capaces de ser utilizados como únicas fuentes de carbono a los siguientes: D-ribosa, D-fructosa, D-galactosa, D-glucosa, D-maltosa, D-trealosa, D-gluconato, caprilato, pelargolato, caprato, succinato, fumarato, D y L-glicerato, L-malato, glicerol, D-manitol, L-aspartato y L-gluconato.

Se ha visto a través del tiempo, que *Aeromonas* puede utilizar un amplio rango de compuestos para su crecimiento. La versatilidad nutricional de *Aeromonas hydrophila* la determinó Vander Kooij (63), sus estudios revelaron que una amplia variedad de compuestos de peso molecular relativamente bajo incluyendo aminoácidos, carbohidratos y un número relativamente grande de ácidos grasos de cadena corta, son utilizados por la bacteria para su crecimiento y desarrollo. Dentro de otro grupo de compuestos utilizados por *Aeromonas* están las proteínas, los almidones y las grasas; éstos, al igual que los anteriores, son utilizados en concentraciones pequeñas de microgramos/litro. Se observó que *Aeromonas* puede utilizar los ácidos carboxílicos presentes en las aguas purificadas con ozono como sustrato para su desarrollo, con lo cual explica la presencia de esta bacteria

en las aguas potabilizadas utilizadas en la ingestión humana (63).

1.6 Vías de transmisión.

El habitat de las bacterias de la especie *Aeromonas hydrophila* es el agua, tanto de mar como de estuarios y dulces, el suelo, los alimentos y la flora intestinal.

Aeromonas hydrophila se encuentra en grandes cantidades en el agua, lodo y aguas de alcantarilla. Por lo tanto, una de las fuentes de transmisión de este microorganismo es el contacto con los medios donde habita.

Otra fuente o vía de transmisión es la presencia de los portadores sanos, que pueden ser el hombre y los animales, en el caso de los primeros hay ocasiones que se ha aislado a la bacteria de personas aparentemente sanas. En investigaciones hechas por Pitaragsi y col (50), encontraron a dicha bacteria en cultivos fecales con una frecuencia variable del 0.2% al 0.7% en individuos aparentemente sanos, este porcentaje se ve incrementado hasta en un 3.2% en los meses de verano y otoño (50).

Las especies móviles de *Aeromonas* dentro de las cuales se encuentra *Aeromonas hydrophila* se reportaron como patógenas para los humanos cuando se descubrió que si se exponía alguna herida a aguas contaminadas con facilidad se infectaban. En el caso de animales, puede infectar y convertir en portadores a anfibios, reptiles, peces, caracoles y vacas. De manera experimental, por vía endovenosa o intraperitoneal se puede infectar a cobayos, ratones, peces y reptiles. Se ha visto que el conejo no es susceptible de ser infectado (13).

FALLA DE ORIGEN

II PATOGENICIDAD .

2.1. Mecanismos de patogenicidad.

2.1.1. Adherencia a células blanco.

Aeromonas hydrophila se ha considerado cada vez más como un microorganismo patógeno, principalmente en pacientes inmunocomprometidos, aunque también se ha incrementado el número de reportes de infecciones sistémicas en personas aparentemente sanas. Los estudios realizados en enterobacterias causantes de diarrea han revelado la existencia de un factor crucial para la patogenicidad de éstas: la capacidad que tiene el microorganismo de adherirse a un determinado tipo de células, las cuales se conocen como células blanco, esta adherencia permite que cualquier toxina que produzca la bacteria tenga un máximo efecto, además de que es prerequisite para infecciones sucesivas (6),(7).

Desde hace varias décadas se han realizados numerosos estudios acerca de la adherencia bacteriana a las células eucariotas, ésta es una interacción que se realiza entre las macromoléculas que existen en la superficie de la bacteria y sus estructuras complementarias que se localizan en la superficie de la célula eucariota. La naturaleza química tanto de la macromolécula bacteriana como de su correspondiente sitio de adherencia en la membrana celular se han identificado en más de una docena de bacterias.

La adherencia de la bacteria a la célula hospedadora se realiza por medio de una interacción "carbohidrato-proteína", ésta última del tipo de las lectinas.

Desde hace aproximadamente 35 años se han estudiado los mecanismos de adherencia en las bacterias Gram negativas "in vitro"; se realiza a través de pruebas de hemaglutinación, adherencia a eritrocitos del grupo "0" así como a células bucales, observándose que hay compuestos del tipo de los polisacáridos que inhiben dicha adherencia (7),(9).

Entre los primeros investigadores en estudiar los mecanismos de adherencia así como su inhibición en *Aeromonas hydrophila*

tueron Atkinson y Trust (7), quienes realizaron diversas pruebas en las que vieron que las bacterias muestran un mecanismo en el que la estructura de adherencia de éstas es de tipo proteico debido a que se inactiva rápidamente por calentamiento a 55°C durante 5 minutos, además son altamente específicas por lo que se presume se asemeja a las lectinas. Al igual que en otros géneros, el proceso de adherencia puede verse inhibido por diversos tipos de azúcares (Ver Tabla 1).

Las concentraciones requeridas para inhibir la adherencia son del orden de milimoles, que son similares a las reportadas para otros géneros. La bacteria es capaz de distinguir diferencias estructurales en los grupos hidroxilo de las hexosas como lo muestran las estructuras D y L de la fucosa y de la galactosa.

Aeromonas hydrophila produce varios tipos de lectinas y cada una de ellas posee un patrón de inhibición diferente, mientras unas cepas son inhibidas por un tipo de azúcares, otras requieren de la combinación de dos tipos (6),(7).

Las lectinas/adhesinas reportadas para *Aeromonas hydrophila* son las siguientes (6):

Lectina/adhesina:	Célula blanco:
-Hemaglutinina asociada a células	Eritrocito de:
	Mamíferos
	Aves
	Peces
	Humanos
-Hemaglutininas libres	Eritrocitos de:
	Peces
	Mamíferos
-Adhesinas asociadas a células	Células del epitelio bucal.
	Vellosidades del intestino de conejo.
	Células del hígado de trucha arcoiris.
	Mucosidades de peces.

-Aglutininas del pili

Células Hep-2

Al igual que en otras bacterias Gram negativas, las moléculas que participan en el proceso de adherencia pueden estar localizadas en el pili del microorganismo. En cepas con una pequeña cantidad de pili se reduce dicha capacidad de adherencia. En cepas que carecen de pili, las moléculas de la adherencia se cree, son proteínas localizadas en la superficie del microorganismo.

Por otra parte, se ha estudiado el pili de esta bacteria, el cual corresponde al tipo I de fimbria de *Escherichia coli*, tiene un diámetro aproximado de 500 nm y forma varios grupos antigénicos diferentes.

Se han identificado cinco clases de *Aeromonas hydrophila* de acuerdo al tipo de pili, aunque cada uno de éstos, purificados y caracterizados por diferentes autores, son completamente diferentes, esto debido tal vez a que las técnicas usadas en dichos purificados son completamente diferentes unas de otras (35).

Dentro de los últimos estudios que establecen al proceso de adherencia como un posible mecanismo de patogenicidad, se encuentran los realizados por Nishikawa y col (46), los cuales observaron que más del 70% de las cepas de *Aeromonas hydrophila* estudiadas se adherieron a un gran número de células Caco-2 (línea celular que asemeja a las células del intestino delgado), en presencia de manosa causando efectos citopatogénicos, y donde la unión parecía efectuarse a través de enlaces entre la bacteria y la membrana de la célula. Los autores observaron que en este tipo de unión las fimbrias no parecen jugar un papel importante en la adhesión debido a que las bacterias que se estudiaron crecían de este tipo de organelo.

Hay que recordar que muchos autores consideran a la adherencia como el primer paso para la patogénesis de las enfermedades y junto con la secreción de toxinas hacen que el efecto de las mismas sea aun mayor y se presente el padecimiento diarreico en el hospedador.

FALLA DE ORIGEN

Tabla 1. Patrones de inhibición de la hemaglutinación de *Aeromonas hydrophila* (7).

A z u c a r :	Concentración mínima de inhibición:
D-fucosa	0.8 milimoles.
L-fucosa	No existe inhibición a una concentración de 17 milimoles.
D-galactosa	0.7 milimoles.
L-galactosa	No existe inhibición a una concentración de 17 milimoles.
Lactosa	5.0 milimoles.
D-galactopiranosil- β -tiogalactopiranósido	5.0 milimoles.
D-galactosamina	1.8 milimoles.
N-acetil-D-galactosamina	0.7 milimoles.
p-nitrofenil- α -D-galactósido	11.0 milimoles.
p-nitrofenil- β -D-galactósido	0.2 milimoles.
D-glucosa	No existe inhibición a una concentración de 17 milimoles.
D-altrosa	No existe inhibición a una concentración de 17 milimoles.
D-talosa	No existe inhibición a una concentración de 17 milimoles.

2.1.2. Producción de toxinas:

Varios investigadores (27),(31),(37),(40),(61), han hecho estudios acerca de las toxinas y enzimas que produce *Aeromonas hydrophila* mencionando a las siguientes :

i) Citotoxina (16),(40):

Esta toxina aparece en el sobrenadante de los cultivos en caldo, se le puede identificar porque produce una secreción fluida en las asas ligadas de conejo. Cuando se aplica el sobrenadante que contiene la toxina a cultivos de diferentes tejidos, como las células HeLa, causan muerte celular, que se manifiesta por la presencia de células con núcleos picnóticos, pérdida de la adherencia y contracción celular; esta muerte celular se presenta si el sistema se incubaba a 37°C.

La mayoría de las cepas de *Aeromonas hydrophila* presenta este tipo de toxina la que, en el humano, tiene actividad enterotóxica.

ii) Citolisinas o hemolisinas(5),(31):

Aeromonas hydrophila produce dos tipos de citolisinas o hemolisinas llamadas alfa-hemolisina y beta-hemolisina; la primera se libera en la fase estacionaria del crecimiento bacteriano; la segunda, en cambio, se produce en la parte final de la fase logarítmica de crecimiento.

La alfa-hemolisina la produce la bacteria cuando crece en medios complejos, la temperatura influye en la producción, a 22°C se produce en grandes cantidades, en cambio, a 38°C queda reprimida totalmente. La influencia de diversos cationes en la producción de ésta no se ha determinado, pero por diversos estudios realizados, parece ser que los iones de zinc la estimulan y los de hierro la reprimen. La hemolisina "cruda" es estable a un pH entre 3.5 a 9.5 y a temperatura ambiente, el calentamiento a 56° C durante 10 minutos la inactiva. Tiene dos puntos isoeléctricos 5.5- 0.1 y 4.3- 0.1; después de estos, la toxina es muy inestable. Los purificados parciales de la hemolisina son destruidos por varias enzimas proteolíticas e inactivados por sustancias como el DDT. La incubación con urea retorna en un 25%

la actividad de la hemolisina, los congelamientos y descongelamientos sucesivos también ocasionan pérdida de actividad de la toxina.

Se ha visto que esta alfa-hemolisina, causa una lisis incompleta de los eritrocitos, tiene una importancia menor en la patogénesis de las infecciones causadas por *Aeromonas hydrophila* comparada con la beta-hemolisina.

La beta-hemolisina (5) se llamó primeramente "aerolisina", y se conoce actualmente como Asao-toxina. Esta toxina se produce en la fase logarítmica de crecimiento y su producción se estimula por la presencia de RNA. Es una proteína extracelular hidrofílica, que exhibe propiedades hemolíticas y citolíticas, posee un peso aproximado de 50 kD, produce un agregamiento molecular espontáneo e irreversible a concentraciones de 0.5 mg/dL. Posee dos puntos isoeléctricos, el primero es de 4.8-5.2±0.1. La actividad de la beta-hemolisina se destruye cuando se calienta a 50°C durante una hora a un pH de 7.0 o a 37°C a un pH de 4.0. La actividad proteolítica de varias enzimas como la tripsina, la pronasa y la subtilisina no afectan su actividad; sin embargo, la papaína y la quimotripsina si la inactivan al igual que los fosfolípidos y lípidos.

La lisis que provoca la beta-hemolisina en los diferentes tipos de eritrocitos es específica de especie, debido a las diferencias en la capacidad de la toxina a unirse con su molécula receptora (glucoforina) localizada en la superficie de la célula blanco, los más sensibles son los de rata y los más resistentes los de carnero.

La beta-hemolisina o aerolisina (8) es secretada al menos en dos pasos, en el primero se forma una proaerolisina, la cual cruza las membranas internas de la bacteria, esta forma es inactiva para la función lítica; posteriormente, al abandonar la célula bacteriana, esta proaerolisina se activa por la remoción de 25 aminoácidos de la parte C-terminal de la toxina por medio de una proteasa secretada por la propia bacteria o por enzimas que se encuentran en la célula blanco. La aerolisina, después de

unirse a su receptor, sufre una oligomerización que forma estructuras pentaméricas o hexaméricas de la toxina, el Zn y la histidina pueden inhibir esta oligomerización. Las formas oligoméricas actúan en la célula blanco formando pequeñas perforaciones o canales con lo que hacen que la célula pierda su viabilidad.

Los anticuerpos contra las dos hemolisinas neutralizan ambas toxinas, no se ha aclarado si esto se debe a que comparten determinantes antigénicos. Ambas hemolisinas tienen acción sinérgica en el agar sangre.

Se ha comprobado que la aerolisina es realmente un factor de virulencia. Se realizaron experimentos con cepas controles de *Aeromonas hydrophila* y cepas mutantes que carecían de la producción de esta toxina, que al ser inyectada a ratones en dosis subletales nunca desarrollaron lesiones necróticas. Algo muy importante, en estos experimentos se presenta la neutralización específica con anticuerpos contra la aerolisina detectada en ratones sobrevivientes a la infección con *Aeromonas hydrophila*, demostrándose con esto que la aerolisina se produce durante el curso de infecciones sistémicas con *Aeromonas hydrophila* (14).

iii) Enterotoxina:

La enterotoxina la produce *Aeromonas hydrophila* cuando crece en medios de cultivo complejos, tales como el caldo triptona de soya suplementado con extracto de levadura y en agitación, incubando a temperatura ambiente o en baño de agua. Aparece en la fase logarítmica de crecimiento, su punto isoeléctrico está entre 4.0 - 5.7, el peso molecular es de 15,000 a 20,000; es estable a un pH entre 4.5 y 10 y su actividad se favorece a un pH alcalino. Los purificados parciales resisten el calentamiento a 56° C durante 10 minutos. La papaína destruye su actividad, aunque el 75% de esta se recupera si se incuba con tripsina o pronase (11), (12), (27), (56), (57).

Aeromonas hydrophila produce la enterotoxina en un 95%. Existe una relación con la positividad de ciertas pruebas

bioquímicas como son: lisina descarboxilasa, Voges-Proskauer, producción de gas a partir de la glucosa, oxidación del gluconato e hidrólisis de la xantina. Esto es de gran valor debido a que en los laboratorios donde no se cuenta con equipos para la detección e identificación de la enterotoxina, se puede tener cierta seguridad de que una cepa la produce si estas pruebas bioquímicas son positivas (61).

iv) Toxina semejante a la del bacilo del cólera:

Es una toxina que cruza antigénicamente con la enterotoxina del cólera. Su peso molecular es de aproximadamente 45,000 a 50,000 y posee un punto isoeléctrico de 5.1 (26).

v) Fosfolipido-colesterol-aciltransferasa:

Esta proteína la libera la mayoría de las cepas de *Aeromonas hydrophila*, es miembro de la familia de las lipasas, cataliza la transferencia de los ácidos grasos de la fosfatidil colina y el colesterol y transfiere el grupo acilo a la posición 2 del colesterol. Se ha visto que tiene un mecanismo de reacción similar a la enzima lecitín-colesterol-aciltransferasa que poseen los mamíferos (62).

vi) Fibrinolisisina:

Esta enzima es un factor potencial de virulencia. Actúa sobre la fibrina desdoblándola en diversas fracciones (37).

vii) Fosfolipasa:

La actividad de esta enzima es hidrolizar a los fosfoglicéridos en diversas partes; existen dos tipos de fosfolipasa en *Aeromonas hydrophila*, la A y la C. La fosfolipasa A₁ separa de modo específico el ácido graso de la posición 1 de la fosfatidil colina, la fosfolipasa A₂ el de la posición 2. La fosfolipasa C hidroliza el enlace entre el ácido fosfórico y la glicerina (37).

viii) Esfingomielinasa:

Esta enzima la produce *Aeromonas hydrophila* cuando se incuba a 20°C, a las 30 horas de incubación aparece en la fase estacionaria de crecimiento y depende de la presencia de iones magnesio. Cataliza la hidrólisis de la esfingomielina a fosforil

colina y ceramida (37).

ix) Lecitinasa:

La curva de producción de esta enzima es bifásica, con un rendimiento máximo en la fase logarítmica de crecimiento; hidroliza los ésteres de lecitina, que es el constituyente normal de la membrana celular (37).

x) Leucocidina:

Aeromonas hydrophila produce esta enzima a las 24 - 72 horas de incubación a 32°C, posee dos puntos isoelectricos, 2.8 y 5.0, es termolábil y sensible a la pronase. Actúa destruyendo a los leucocitos polimorfonucleares principalmente, aunque puede tener actividad lítica sobre otras células como los eritrocitos (37).

Otro de los mecanismos de patogenicidad que posee *Aeromonas hydrophila* es la producción de enzimas proteolíticas (4) (36), las cuales tienen las siguientes características: temperatura óptima de 48°C, pH óptimo de 9 y peso molecular de 87,500. Las enzimas proteolíticas o proteasas se producen cuando la bacteria crece en un medio rico en varios aminoácidos, juega un papel importante debido a que hace posible que la bacteria pueda aprovechar los aminoácidos disponibles ya sea del hospedador o del medio de cultivo y los utilice como nutrientes para su crecimiento y reproducción, con lo cual se favorece su diseminación y, por lo tanto, su patogenicidad. Otra de las acciones principales de las proteasas son: el daño celular, el aumento del poder de invasividad de la bacteria y la provisión de nutrientes de la misma. Entre los efectos que tienen las proteasas de forma indirecta, está la acción proteolítica sobre el precursor de la aerolisina de *Aeromonas hydrophila* para activarla.

Waltman y col (65) determinaron las características del sistema enzimático de *Aeromonas hydrophila*. Llegando a los siguientes resultados: la bacteria carece de aminopeptidasa-valina, α -fucosidasa, α -galactosidasa, β -glucuronidasa, aminopeptidasa-cistina, quimotripsina. Produce

las enzimas: caprilato esterasa-lipasa, fosfatasa ácida, fosfoamidasa, N-acetil- β -glucosidasa.

Encontraron pequeñas cantidades de fosfatasa alcalina, butirato esterasa, así como de miristato lipasa y algo más de tripsina.

2.1.3. O T R O S.

-Capa S y lipopolisacáridos.

Otro factor que contribuye a la patogenicidad de *Aeromonas hydrophila* es una estructura proteica cristalina de la superficie, conocida en un principio como Capa A y más tarde como Capa S, que es absolutamente necesaria para la virulencia. Está compuesta por una proteína y lipopolisacáridos; el componente principal es la primera con un peso molecular aproximado de 50,000, tiene un arreglo tetragonal y forma una capa continua que parece cubrir a la membrana exterior de la célula. Esta capa dota a la bacteria de capacidad para asociarse con los macrófagos y así darle el poder de resistir los efectos de una variedad de proteasas y, con esto, facilitar la difusión de la infección causada por la bacteria misma.

Se ha observado que la Capa S da protección a la célula contra la actividad bactericida del suero, además, funciona como una barrera física que impide el acceso de los componentes líticos del complemento a la membrana citoplasmática de la bacteria, protege contra las enzimas líticas, metales pesados y bacteriófagos (19), (32), (60).

Dooley y col (19), fueron los primeros en reportar la existencia de esta capa en *Aeromonas hydrophila*. Su arreglo tetragonal es morfológicamente similar al producido por *Aeromonas salmonicida* pero parece ser que no están relacionadas antigénicamente. Kostrzynska y col (32) plantean una diversidad genética entre las cepas de *Aeromonas hydrophila* y establecen la existencia de diferentes clases antigénicas de la Capa S de esta bacteria, planteando que estas diferencias radican en la secuencia de aminoácidos de las proteínas que constituyen estas capas.

Por otra parte, se ha visto que otras estructuras superficiales son los lipopolisacáridos que contribuyen a que las cepas virulentas tengan una alta capacidad de resistencia a la actividad lítica del complemento, ya sea en presencia o ausencia de anticuerpos específicos y que contribuyen a su potencial para sobrevivir, proliferar y producir enfermedad en el hospedador infectado por la bacteria, y que de algún modo impiden el acceso de los componentes líticos del complemento a los lugares claves que atacan en la membrana de la célula.

Los lipopolisacáridos (18),(23) están formados por una parte lipídica, un polisacárido nuclear y una serie de cadenas de O-polisacárido; las estructuras o partes de los lipopolisacáridos que participan en la protección contra la actividad lítica del complemento son las cadenas de O-polisacárido; el daño o la reducción en el número de estas cadenas en ciertas cepas mutantes, permite el acceso de los componentes del complemento a las partes de ataque en la membrana de la bacteria causando el daño bactericida concomitante. En cepas que cuentan con sus lipopolisacáridos completos, éstos le confieren una resistencia a la actividad del complemento; cuando éste se activa por vía alterna en el suero normal, dicha activación se ve afectada, lo que evita que se efectúe la lisis bacteriana.

-Sideróforos.

Dentro de los últimos mecanismos de patogenicidad reportados para *Aeromonas hydrophila*, está el sistema de sideroforos (66).

Como se sabe, el hombre cuenta con diversas fuentes de Fe (hemoglobina, citocromos, mioglobina, depósitos en hígado, bazo y médula ósea). Durante el proceso de infección, la bacteria -para implantarse dentro del hospedador- necesita la presencia de Fe, el cual utiliza en su metabolismo; el hospedador durante este proceso, tiene varias respuestas para impedir el aprovechamiento de estas fuentes de Fe: la propiedad bacteriostática de las transferrinas y de la lactoferrina que pueden actuar sobre el microorganismo, la respuesta hipoférrica para que el Fe presente en el suero se transforme temporalmente en ferritina y no pueda

ser aprovechado por el microorganismo (38). Por su parte, dicho microorganismo cuenta con un mecanismo para poder aprovechar dichas fuentes de Fe: la producción de sideróforos.

El género *Aeromonas* produce dos sideróforos llamados enterobactina y amonabactina. La última mencionada es el sideróforo que prevalece más dentro de la especie *Aeromonas hydrophila*. Tiene dos formas activas, la forma T y la forma P. Se puede considerar a la amonabactina como un factor de virulencia. Las cepas productoras de este sideróforo obtienen el Fe de los vertebrados en forma de Fe-transferrina (66).

2.2. Enfermedades gastrointestinales causadas en el humano.

Un vistazo rápido a la literatura sugiere a *Aeromonas hydrophila* como un agente causal de enfermedades diarreicas con un amplio rango de síntomas.

Entre los primeros investigadores que reportaron a *Aeromonas hydrophila* como agente causal productor de diarreas esta Burke y col (10) quienes establecen a esta especie junto con otras del mismo género como enteropatógenas causantes de diarreas pediátricas en Australia. Encontraron que las especies enterotoxigénicas se hallaban en 10.8% de muestras de heces de pacientes con diarrea y en 0.7% de pacientes sin diarrea. La mayoría de los aislamientos se obtuvieron en los meses de verano, sólo una cuarta parte de los pacientes padecía simultáneamente algún tipo de infección ya sea de tipo viral o bacteriana mixta.

Por su parte, Gracey y Burke (21) reportaron el aislamiento de *Aeromonas* como agente causal de gastroenteritis en niños menores de dos años. El reporte de aislamientos en niños con diarrea fue de 10.2% y en niños sin diarrea de 0.6%. En más de una tercera parte de los pacientes, la diarrea tuvo una duración mayor de dos semanas y una cuarta parte presentaron cuadros clínicos semejantes al síndrome disentérico.

Aeromonas es uno de los microorganismos que produce en los adultos la conocida "diarrea del viajero" (22), la cual afecta a millones de personas cada año, particularmente a los viajeros de

países industrializados que visitan países subdesarrollados como los de Asia, Africa, América Central y Sudamérica. *Aeromonas hydrophila* junto con otras especies de este mismo género se han aislado igualmente de las evacuaciones de viajeros que presentaron diarrea y que habían viajado a la India y Bangladesh, en varios casos se aisló como único agente patógeno entérico. Los síntomas que presentan los pacientes son diarreas recurrentes con sangre y moco acompañadas de dolor abdominal.

Por lo anteriormente expuesto, se ha considerado la posibilidad de incluir a *Aeromonas hydrophila* en la lista de los microorganismos causantes de la "diarrea del viajero" y no pasar inadvertido en el laboratorio.

Otro padecimiento de tipo diarreico pero con características de cólera, en el que se involucra a *Aeromonas hydrophila*, es el reportado por Pitaragsi y col (50), este caso se presentó en Bangkok capital de Tailandia, donde los padecimientos de este tipo son muy frecuentes.

Los síntomas clínicos producidos por *Aeromonas hydrophila* en los pacientes que padecen gastroenteritis, se resumen en los siguientes: de 3 a 5 evacuaciones por día, anorexia, escalofrío, dolor abdominal, flatulencia y dolores de cabeza.

Holmberg y col (25), por su parte, reportaron las siguientes características clínicas donde *Aeromonas hydrophila* aparece como agente causal de enfermedades diarreicas: en pacientes no inmunocomprometidos se presentan diarreas leves de corta duración que requieren de reemplazo de líquidos y electrolitos. En niños menores de dos años de edad, la enfermedad se puede presentar con evacuaciones sanguinolentas, fiebre, náuseas, vómitos, con una duración -en ocasiones- de más de una semana.

En pacientes inmunocomprometidos, Holmberg y col (25), reportan lo siguiente: *Aeromonas hydrophila* produce el 40% de las infecciones en pacientes con leucemia, 15% en personas con otras enfermedades malignas y el 30% en pacientes con desórdenes hepatobiliares.

Rahman y Willoughby (54), reportaron el caso de un paciente

másculino sano que presentó un síndrome parecido al disentérico causado por *Aeromonas hydrophila*. El paciente de 35 años de edad, después de un viaje a Calcuta presentó dolor abdominal con calambres y evacuaciones diarreicas con sangre y moco; aunque la frecuencia de las evacuaciones se incrementó más tarde a 5-6 por día, el estado del paciente no deterioró. El examen de dos muestras de heces mostró un parásito bacteriano poco frecuente, que más tarde se identificó como *Aeromonas hydrophila* con el sistema APY 20E. El tratamiento con metronidazol durante 10 días disminuyó el dolor abdominal y los calambres, pero no las evacuaciones diarreicas. Posteriormente, el examen con el sigmoidoscopio mostró una proctitis hemorrágica abundante. Una biopsia rectal indicó la inflamación crónica no específica de la lámina propia. Las pruebas de laboratorio siguientes dieron negativas: rutina hematológica, funcionamiento hepático, serológicas para el virus de Epstein-Barr, citomegalovirus y *Entamoeba histolytica*, prueba de Widal y cultivo viral de heces. El cultivo de líquido rectal obtenido de la sigmoidoscopia, así como las muestras posteriores de heces, produjeron sólo un gran crecimiento de *Aeromonas hydrophila*, hallazgo que fue confirmado más tarde por el Vibrio Reference Laboratory.

Otros de los investigadores que involucran a *Aeromonas hydrophila* junto con otras especies de este mismo género como agente causal de diarrea son Kuijper y col (33), quienes al hallar a *Aeromonas* en el sistema de red de agua potable de Holanda, investigaron la presencia de esta bacteria durante 5 años, encontrando que en los meses de verano estaban presentes hasta 1,000 U.F.C./100 mL de agua. El mayor número de cepas aisladas pertenecía a la especie *Aeromonas hydrophila*. De las 169 cepas identificadas, el 19% eran de pacientes con infecciones mixtas, y el 15% eran de pacientes que estaban tomando medicamentos (tales como derivados de penicilina, antiácidos, etc) que podían predisponer al tracto intestinal a ser colonizado por *Aeromonas*. La distribución de cepas mostró que en los pacientes de 50 años o más se presenta principalmente *Aeromonas hydrophila*.

Deodhar y col (17) establecen a *Aeromonas* como responsable de padecimientos diarreicos. En un período de dos años aislaron 45 cepas de diferentes especies de *Aeromonas*, a partir de 2,480 pacientes con gastroenteritis aguda, no se encontró otro patógeno entérico en ninguno de estos 45 pacientes. 35 de estas cepas (77.8%) fueron de *Aeromonas hydrophila* y el resto de otras especies del género *Aeromonas*. El examen de estos aislamientos para ver la producción de exotoxinas (enterotoxinas y hemolisinas) fue positivo. Por los resultados obtenidos, los autores sugieren a las especies de *Aeromonas*, principalmente a *Aeromonas hydrophila*, como patógenos entéricos potenciales.

Por su parte, Pazzaglia y col (48) reportaron a *Aeromonas* como un patógeno que se presenta muy frecuentemente en niños con padecimientos diarreicos, así como un microorganismo colonizador transitorio del tracto intestinal en niños recién nacidos. En el primer caso, aislaron a *Aeromonas* en 205 de 391 muestras (52.4%) de pacientes infantiles del Perú de menos de 18 meses de edad, hospitalizados por padecer diarreas agudas, así como en 12 de 138 (8.7%) muestras de infantes sanos utilizados como grupo control. En las muestras positivas se encontró a otros microorganismos coinfectando al paciente (*Escherichia coli*, *Campylobacter*, etc). En el segundo caso, se determinó el rango de colonización de *Aeromonas spp* en 52 neonatos del Perú nacidos por cesárea. Se le aisló en un 23.1% de las muestras de los infantes durante la primera semana de vida. La colonización es transitoria y no se asocia con alguna enfermedad limitándose, a lo máximo, a un día de diarreas líquidas de volumen normal. En el primer caso, los autores plantean a *Aeromonas* como un patógeno causante de diarreas, en el segundo como a un microorganismo colonizador no causante de enfermedad alguna.

Dentro de los últimos estudios donde establecen a *Aeromonas hydrophila* como un microorganismos patógeno causante de gastroenteritis, se encuentran los hechos por Gluskin y col (23), quienes estudiaron durante un período de 15 años el papel patogénico de *Aeromonas* principalmente de la especie *hydrophila*,

aislando 146 cepas a partir de 32.810 muestras fecales provenientes de 13,820 pacientes menores de 13 años. Estos aislamientos constituyeron el 4% de todas las bacterias patógenas cultivadas. El 94% de los pacientes era menor de 3 años. El pico de incidencia donde se presentó el padecimiento diarreico fue en niños de 2 a 6 meses. Los pacientes presentaron un cuadro clínico con vómitos, deshidratación, acidemia y fiebre. Los autores observaron que en este grupo de niños, el período de duración de la enfermedad así como el de hospitalización, fue mayor comparado con niños mayores. Los autores concluyen que este microorganismo debe ser considerado como un patógeno verdadero en niños menores de 1 año de edad y, por lo tanto, se debe establecer como rutina la búsqueda del mismo.

Otros investigadores que realizaron estudios acerca del papel patogénico de esta bacteria fueron Morena y col (43). Determinaron la frecuencia de *Aeromonas spp* como causante de brotes de diarrea en niños menores de 5 años asistentes a guarderías del Estado de Texas en Estados Unidos.

En un período de 27 meses de estudio, examinaron 381 niños involucrados en 51 brotes de diarrea así como en casos esporádicos. El rango de duración de la enfermedad fue desde una semana hasta 4 meses y el número de niños afectados fué de 2 a 54. Las especies de *Aeromonas* se aislaron en dos brotes de diarrea. En el primero se aisló a la bacteria en 6 de 25 niños (24%). En el segundo en 5 de 24 niños (21%). *Aeromonas hydrophila* se aisló como segundo agente causal de estos brotes de diarrea antecedido por *Aeromonas caviae*. Los autores establecen la necesidad de un control más exacto de los agentes causales de este tipo de padecimientos, para evaluar de manera fidedigna el papel de otros patógenos poco comunes como lo es *Aeromonas hydrophila*.

Otros autores que involucran a *Aeromonas hydrophila* como agente causal de diarreas en países subdesarrollados son Ogunsanya y col(47), quienes establecen a este microorganismo, al igual que otros autores, como un patógeno diarreico con una

importancia relevante debido a que en ocasiones se presenta en un porcentaje mayor que otros comunmente conocidos. Estudiaron muestras fecales provenientes de niños menores de 5 años con y sin diarrea en Lagos, Nigeria en un periodo de 5 meses.

En el grupo con diarrea se aislaron como agentes causales, bacterias, virus y parásitos enteropatógenos. El 59.1% fueron infecciones causadas por bacterias, 26.5% por virus y 2.3% por parásitos. El patógeno más frecuentemente aislado fue rotavirus, seguido por *Escherichia coli* (enterotoxigénica, enteropatógena, enteroadherente y enterohemorrágica). Otros microorganismos aislados en orden decreciente fueron : *Shigella*, *Salmonella*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Trichuris trichiura*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Trichomonas hominis*. Como se puede observar, *Aeromonas hydrophila* ocupa un lugar de mayor frecuencia aún por encima de patógenos considerados como tradicionales como lo es *Entamoeba histolytica*. Los autores sugieren que tanto los agentes causales de diarrea plenamente reconocidos, así como los de reciente descubrimiento como lo es *Aeromonas hydrophila*, son causa importante de diarrea en niños menores de 5 años en Lagos, Nigeria.

FALLA DE ORIGEN

III. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

3.1 Microbiológico.

Medios de Cultivo.

Distintos autores han estudiado el aislamiento de *Aeromonas hydrophila* en diversos medio de cultivo; entre ellos se encuentran Hunt y Overman (29), quienes reportaron una característica importante del medio de cultivo para el aislamiento de dicha bacteria: el pH, el cual debe mantenerse constante debido a que una variación afecta la prueba de la oxidasa que es esencial para distinguir a estas bacterias de las pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, las cuales son oxidasa negativa. La bacteria, al desarrollar en un medio diferencial como lo es el agar Mac Conkey, presenta variabilidad en los resultados debido a la baja del pH que sufre el medio por la producción de ácidos a partir de la fermentación de los carbohidratos. El análisis por cromatografía de gases mostró que *Aeromonas hydrophila* produce ácido acético, fórmico, pirúvico, láctico, oxalacético y succínico a partir de la fermentación de la lactosa que contiene el medio.

Se ha encontrado que los microorganismos fuertemente oxidasa positiva sufren una transición a débilmente positiva antes de convertirse a oxidasa negativa cuando crecen en presencia de carbohidratos fermentables. Por lo tanto, cuando los productos finales de fermentación de los carbohidratos sean en su mayor parte ácidos, serán los responsables de inhibir la prueba de la oxidasa por la baja del pH del medio hasta un punto crítico. El resultado de esta reacción para una amplia variedad de bacterias incluyendo a *Aeromonas hydrophila* se inhibe a un pH comprendido entre 4.7 a 5.6. En particular, el pH crítico para la reacción de la oxidasa en cepas de *Aeromonas hydrophila* parece ser de 5.1. El rango de supresión de esta bacteria es muy estrecho, se encuentra entre 5.1 y 5.2., lo cual sugiere que es muy específico para *Aeromonas hydrophila*.

Por su parte Mouldsdale(45), probó un medio de agar sangre modificado para el aislamiento de *Aeromonas*. El autor reporta que

a las 18 horas de incubación. el medio de cultivo da una buena separación e identificación de las colonias de *Aeromonas spp* que toman un color rosa propio de las cepas de los microorganismos no fermentadores de la xilosa y se diferencian fácilmente de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, que toman un color amarillo característico de los fermentadores de la xilosa. Es posible hacer de este medio, uno altamente selectivo si se le adiciona vancomicina para inhibir el crecimiento de los microorganismos Gram positivos.

El autor reporta las siguientes ventajas para este medio:

- a) No inhibe a ninguna de las cepas de *Aeromonas spp* debido a que no contiene sales biliares.
- b) Permite realizar la prueba de la oxidasa directamente en el medio por no existir cambio en el pH que pueda afectarla y dar una prueba falsa negativa.

Von Graevenitz y Bucker (64), estudiaron una serie de nueve medios de cultivo sólidos y dos líquidos para probar la capacidad de aislamiento de *Aeromonas spp* y *Plesiomonas shigelloides*, a partir de muestras de heces humanas, tanto artificialmente contaminadas con cepas de las bacterias antes mencionadas, como de pacientes con y sin diarrea. Según los resultados obtenidos por los autores, los medios con la sensibilidad y capacidad óptima para *Aeromonas spp* son el agar verde brillante-sales biliares, el agar sulfito-fuchsina-dextrina, el agar pril-xilosa-ampicilina y los caldos de enriquecimiento como el agua peptonada alcalina y el caldo tripticasa-soya con ampicilina.

Por su parte, Robinson y col (55), analizaron cinco medios sólidos para observar su efectividad en el aislamiento de *Aeromonas* a partir de muestras de heces. Los medios analizados fueron: agar Desoxicolato-citrato, agar Mac Conkey, el agar Desoxicolato-xilosa, el medio de Rogol modificado, el cual contiene p-nitrofenil glicerina 25 mg/dL y ampicilina-sangre que se preparó con base agar Columbia con sangre de caballo al 5% y 10 mg/dL de ampicilina (que inhibe el crecimiento de coliformes).

concluyendo que este último medio es el mejor de los cinco estudiados para producir un alto índice de aislamiento de *Aeromonas*, además de ser un medio de fácil preparación.

Millership y col (41), hicieron una reevaluación de los siguientes medios de cultivo para el aislamiento de *Aeromonas hydrophila*: agar Desoxicolato de sodio-citrato, agar Desoxicolato de sodio-xilosa, agar Verde brillante-sales biliares así como el caldo de enriquecimiento agua peptonada.

Los autores llegaron a la conclusión de que la combinación ideal para un mejor aislamiento de *Aeromonas hydrophila* es la utilización de agua peptonada junto con el agar Verde brillante-sales biliares.

Misra y col (42), en 1989, observaron durante la búsqueda para determinar la etiología bacteriana de la diarrea a partir de heces remitidas a su laboratorio, que el medio de aislamiento conocido como agar selectivo de Butzler para *Campylobacter* (BCSA) sirve como un excelente medio de crecimiento para *Aeromonas spp.* Estas bacterias se desarrollan perfectamente en las condiciones óptimas requeridas para el crecimiento de *Campylobacter* termófilos que incluyen un ambiente microaerófilo (5% de Oxígeno), con una concentración aproximada del 10% de CO₂ y una temperatura de incubación de 42°C. Este hallazgo los motivó para efectuar una evaluación de la eficacia de este medio comparándolo con el empleado comúnmente para estos fines: el agar sangre de carnero-ampicilina (ASBA 30) a partir de una serie de 563 muestras de pacientes con diarrea. Se modificó la composición del agar selectivo de Butzler para *Campylobacter*, utilizándose agar Muller-Hinton suplementado con 10% de sangre de carnero desfibrinada y adicionada con la formulación de Butzler de agentes antimicrobianos. De las 563 muestras de pacientes con diarrea aguda que se sembraron en ambos medios, en 71 (12.6%) se presentó desarrollo de *Aeromonas* en las cajas de ambos medios; el rango de aislamiento de ASBA fue del 70.4% y en el medio BCSA fue de 56.3%; sin embargo, hubo un porcentaje del 29.5% de cepas que solo crecieron en BCSA. Misra y col explican este fenómeno

en base a la capacidad de inhibición del medio BCSA, el cual inhibe el crecimiento de una gran cantidad de flora acompañante de las muestras de heces con lo cual se favorece el crecimiento de *Aeromonas spp* que se sabe se encuentra en pequeñas cantidades y, por lo tanto, puede perderse sino existe este tipo de inhibición. Específicamente *Aeromonas hydrophila* crece ligeramente mejor en el medio BCSA que en el ASBA 30.

Los autores reportan que el tamaño y la zona de hemólisis de las colonias de *Aeromonas* en el medio BCSA son mucho más claras y grandes que en el medio ASBA 30, dicha hemólisis se favorece por la utilización de una atmósfera de CO₂, el cual se cree permite la producción de una hemolisina.

Por su parte Kelly y col (30), compararon cuatro medios de cultivo para el aislamiento de *Aeromonas spp* a partir de muestras de heces, el agar sangre (BA), el agar sangre-ampicilina (ABA), el agar Mac Conkey con Tween 80 (MAT), y el agar cefsulodina-irgasan-novobiocina (CIN) modificado. Según los autores, el ABA es superior al MAT y al CIN modificado. El ABA detecta de 30% a 50% más aislamientos de *Aeromonas* que los otros medios. Sin embargo, el medio CIN modificado detectó 15% de aislamientos que no pudieron detectarse ni con el BA ni con el ABA; la combinación del ABA y el CIN modificado rinden casi un 100% de aislamientos de *Aeromonas*. Observaron, además, que el BA no ofrece ventajas sobre el ABA en el aislamiento de cepas sensibles a la ampicilina.

Comparando el MAT y el ABA, éste último rinde dos veces más aislamientos, esto tal vez, debido a la alta concentración de ampicilina utilizada en el primer medio (100 mg/dL).

Aunque el ABA es el medio que rinde el mayor porcentaje de aislamiento de *Aeromonas spp*, tomando en cuenta el costo del medio y su efectividad en la detección de la amplia variedad de bacterias causantes de diarrea, es poca la rentabilidad, en cambio el medio CIN modificado aunque tiene la desventaja de detectar un 33% menos de cepas de *Aeromonas spp* tiene sin embargo, dos grandes ventajas: primero, aísla a otro microorganismo causante de diarrea como lo es *Yersinia*

enterocolitica y segundo, posee en su composición agentes inhibidores de la flora bacteriana común de las heces con lo que se favorece el aislamiento de *Aeromonas spp* que crece en pequeñas cantidades.

Kelly y col (30), señalan que el ABA debería emplearse en combinación con otros medios para la óptima detección de *Aeromonas spp*, como lo señalan otros autores; en este estudio, la combinación ideal fue el uso del ABA y el CIN modificado, no se presentó el caso de que crecieran en el medio BA y no en el ABA. Al contrario de lo que se esperaba, la ampicilina favoreció el aislamiento de *Aeromonas spp* por inhibir el crecimiento de la flora normal de las heces. La concentración de la ampicilina es importante, debido a que a 100 µg/dL como se encuentra en el MAT, inhibe la recuperación de *Aeromonas*, en cambio a 20 µg/dL como en el ABA, es la concentración ideal para el aislamiento.

Pruebas bioquímicas.

Al igual que en los medios de cultivo, varios investigadores han realizado una serie de pruebas bioquímicas para la identificación de *Aeromonas hydrophila*.

Entre estos investigadores se encuentra Burke y col (11),(12) quienes realizaron varios estudios para hacer una correlación entre el biotipo y la enterotoxigenicidad. Todas las cepas estudiadas que se identificaron como *Aeromonas hydrophila*, presentaron la prueba Voges-Proskauer negativa, la oxidación del gluconato negativa y la producción de gas positiva. En cuanto a la enterotoxigenicidad, no establecieron alguna relación con el biotipo.

Otros de los autores que realizaron estudios acerca de la biotipificación del género *Aeromonas* son Kuijper y col (34), quienes hicieron una comparación de las características bioquímicas con otros estudios (hibridación del DNA y la producción extracelular de toxinas) para la identificación de 189 aislamientos de *Aeromonas* procedentes de heces humanas.

Kuijper y col, establecen que *Aeromonas hydrophila* hidroliza

la esculina y la arbutina, produce gas a partir de la glucosa, crece en el caldo KCN, fermenta la arabinosa y la salicilina, no produce lisina descarboxilasa y H_2S , no crece a 42°C, es citotóxica para las células Vero y produce hemólisis tipo beta.

Resumiendo las pruebas investigadas para *Aeromonas hydrophila* se tienen los siguientes resultados:

P R U E B A:	RESULTADOS	P R U E B A	RESULTADOS
Indol	(+)	Rojo de Metilo	+
Urea, hidrólisis	-	Esculina, hidrólisis	+
D-glucosa, gas a 37°C	(+)	Acido a partir de:	
Citrato (Simmons)	+	D-glucosa	+
KCN, crecimiento	+	Lactosa	(-)
H_2S	-	Sacarosa	(+)
Fenilalanina desaminasa	(-)	Maltosa	+
Movilidad	+	L-arabinosa	(-)
L-lisina descarboxilasa	-	Rafinosa	-
L-ornitina descarboxilasa	-	mio-Inositol	-
Malonato, utilización	+	Dulcitol	-
Manitol	+	D-sorbitol	-
Nitrato, reducción	+	Salicina	(+)
Voges-Proskauer	(-)	Hemólisis	(+)
Catalasa	+	Sensible a O/129	-
		OXIDASA	+

+ =90% o más de cepas positivas

(+)=51-89% de cepas positivas

(-)=10-50% de cepas positivas

- =menos del 10% de cepas positivas

3.2. Inmunológico.

Reacciones de precipitación.

La identificación de *Aeromonas hydrophila* se ha realizado por diversas técnicas inmunológicas, de entre las cuales la utilizada por Peduzzi y col(49) resultó de las más adecuadas debido a que existió correlación con las pruebas bioquímicas, las características morfológicas de la bacteria y la especificidad de la prueba.

Peduzzi y col (49), utilizaron la inmunoprecipitación, empleando la técnica de la doble difusión de Ouchterlony y la inmunolectroforesis. Utilizaron una serie de cepas de referencia de *Aeromonas hydrophila* junto con otras de diferente especie de *Aeromonas*. Los resultados encontrados indican que cada suero reaccionó con su antígeno específico pero no con los de otras especies utilizadas, además de que concordaban con las pruebas bioquímicas realizadas paralelamente. Por todo esto, los autores concluyeron que la técnica antes mencionada sirve para la identificación de *Aeromonas hydrophila* en forma rápida y precisa.

Reacciones de aglutinación.

Entre las primeras pruebas de aglutinación hechas para *Aeromonas hydrophila* están las realizadas por Adams y Atkinson(1). En estas pruebas utilizaron diversos tipos de eritrocitos (humanos, de caballos, de ratas, etc) así como una serie de carbohidratos (L-fucosa, D-galactosa y D-manosa) como inhibidores de dicha aglutinación. Estas pruebas tenían como objetivo establecer un esquema de tipificación de *Aeromonas hydrophila* con utilidad epidemiológica, en el que se relacionaba la capacidad de la cepa de aglutinar cierto tipo de eritrocitos, (así como su inhibición por un azúcar específico) con el origen de su aislamiento, es decir estos patrones ayudaban a diferenciar a las cepas de *Aeromonas hydrophila* enteropatógenas causantes de diarrea de las cepas avirulentas.

De entre los últimos estudios se encuentran los realizados por Singh y Sanyal (57), quienes establecieron que *Aeromonas hydrophila* presenta actividad hemolítica con eritrocitos humanos tipo "O" y dicha actividad se ve inhibida con azúcares del tipo de la D-manosa, la L-fucosa y D-galactosa. Además establecieron que esta actividad es independiente del origen de las cepas utilizadas.

3.3 Otros

Prueba de CAMP:

En varias ocasiones se ha visto la necesidad en el

laboratorio clínico, de una identificación rápida de *Aeromonas hydrophila*, principalmente en cultivos mixtos de heces provenientes de pacientes con alto riesgo. Una prueba que brinda esta posibilidad es la parecida a la de CAMP, debido a que se ha observado que la bacteria antes mencionada posee un factor hemolítico parecido al que posee *Streptococcus agalactiae*, que produce una hemólisis en forma de flecha cuando se siembra en forma perpendicular a una cepa de *Staphylococcus aureus* productora de β hemolisina.

Figura y col (20) investigaron la presencia de este factor en varias especies entre ellas *Aeromonas hydrophila*. Examinaron un total de 69 cepas, de las cuales 23 pertenecían a la especie antes mencionada. La siembra se realizó en 2 placas de agar sangre de carnero por cada cepa; una caja se incubó en condiciones de anaerobiosis y la otra en aerobiosis a una temperatura de 37°C durante toda una noche. Encontraron que *Aeromonas hydrophila* produce este factor tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis. Para probar que este factor es exclusivo de *Aeromonas hydrophila* así como de otras especies de este género, los autores antes mencionados probaron cepas de bacteria que podían confundirse con *Aeromonas* como *Vibrio cholerae*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio parahaemolyticus* y cepas hemolíticas de *Escherichia coli*. Casi ninguna produjo dicho factor, con excepción de una cepa de *Vibrio fluvialis* y dos de *Vibrio parahemolyticus* en condiciones de aerobiosis. Sin embargo, estas cepas pueden fácilmente distinguirse de las *Aeromonas* por su susceptibilidad al agente vibriostático O/129 a las que son sensibles todas las especies de *Vibrio* y resistente las especies de *Aeromonas*. Se plantea esta prueba como sumamente útil para la identificación en forma fácil y rápida (aunque en forma presuntiva) de las especies de *Aeromonas* incluyendo a *Aeromonas hydrophila*.

IV.- TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL.

Dentro del tratamiento de las enfermedades causadas por *Aeromonas hydrophila*, se encuentra la administración de antibióticos. La susceptibilidad de este microorganismo se ha probado desde hace varios años, pero su uso inadecuado ha provocado la aparición del fenómeno de resistencia, por lo que el esquema de tratamiento para las diarreas provocadas por esta bacteria se ha modificado en los últimos tiempos. Morita y col (44) han estudiado este fenómeno de resistencia así como la susceptibilidad de *Aeromonas hydrophila* a una serie de nuevos antibióticos para el tratamiento de enfermedades causadas por este microorganismo. Determinaron la concentración mínima inhibitoria a la ampicilina, imipenem, ticarcilina, ticarcilina-clavulanato, piperacilina, cefarolidina, moxalactama, cefoperazona, cefoxitina, cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona y aztreonam.

Todas las cepas fueron resistentes a la ampicilina, la cual en un tiempo fue el antibiótico de elección para el tratamiento de las enfermedades diarreicas causadas por *Aeromonas hydrophila*; en cambio, estas mismas cepas fueron susceptibles al aztreonam. La piperacilina mostró una actividad variable pero sin embargo fue la más activa de todas las penicilinas analizadas.

Por los resultados obtenidos, los autores sugieren tener en cuenta la aparición de cepas productoras de β -lactamasas para tener mejores resultados en el tratamiento de dichas enfermedades diarreicas.

FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES:

- 1.- El estudio de nuevos tipos de bacterias como lo es *Aeromonas hydrophila* es de gran importancia para un buen control epidemiológico de los diversos tipos de padecimientos que causan.
- 2.- *Aeromonas hydrophila* era una bacteria que pasaba desapercibida o era confundida con otras como *Escherichia coli*, siendo que la primera es oxidasa positiva y la segunda oxidasa negativa, prueba que es fundamental en la identificación de *Aeromonas hydrophila*.
- 3.- El estudio de esta bacteria se fue incrementando debido a que se observó que era el agente causal de muchas enfermedades entre ellas, y siendo las de mayor importancia por el número de casos que se le han atribuido, las de tipo diarreico.
- 4.- Los mecanismos de patogenicidad con que cuenta esta bacteria son muy variados, siendo los principales la adherencia a sus células blanco y la producción de cierto tipo de toxinas, ambos mecanismos muy efectivos para que la bacteria se establezca en el hospedador y cause la enfermedad.
- 5.- El padecimiento causado por *Aeromonas hydrophila* presenta un cuadro clínico muy variado y poco característico que puede atribuirse a otros agentes causales típicos de estos padecimientos. La sintomatología va desde diarreas leves de corta duración hasta cuadros diarreicos parecidos al cólera producido por *Vibrio cholerae*, enfermedad que en la actualidad se ha convertido en un gran problema de salud pública en México.
- 6.- Es necesaria la plena identificación de esta bacteria para que se de el tratamiento más adecuado y así se evite lo que en la mayoría de bacterias, e incluso en la misma *Aeromonas hydrophila* ya se ha presentado, el fenómeno de resistencia.
- 7.- Es necesario tener conocimiento de la existencia de bacterias poco conocidas como lo es *Aeromonas hydrophila* para que, como se mencionó antes, no pasen desapercibidas o no se confundan con otras más conocidas.

FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFIA.

- 1 .-Adams D., Atkinson H.M., Woods W.H. "*Aeromonas hydrophila* scheme based on patterns of agglutination with erythrocytes and yeast cell". J. Clin. Microbiol. 17/3/422-427 (1983).
- 2 .-Altwegg M., Luthy-Hottenstein J. "Methods from the identification of DNA hybridization groups in the genus *Aeromonas*". Experientia 47/4/403-406 (1991).
- 3 .-Altwegg M., Steigerwalt A.G., Altweggbissig R., Luthy-Hottenstein J., Brenner D.J. "Biochemical identification of *Aeromonas* genospecies is isolated from human". J. Clin. Microbiol. 28/2/258-264 (1990).
- 4 .-Amborski R.L., Borall R., Tume L. "Effects of short-term cold storage on recovery of protease from extracellular products of *Aeromonas hydrophila*". Appl Environ Microbiol 48/2/456-458 (1984).
- 5 .-Asao T., Kinoshita Y., Kosaki S., Uemura T., Sakaguchi G. "Purification and some properties of *Aeromonas hydrophila* haemolysin". Infect. Immun. 46/1/122-127 (1984).
- 6 .-Ascencio F., Ljungh A., Wadstrom T. "New lectins and others putative adhesin in *Aeromonas hydrophila*". Experientia 47/5/414-416 (1991).
- 7 .-Atkinson H.M. Trust T.J. "Haemagglutination properties and adherence ability of *Aeromonas hydrophila*". Infect. Immun. 27/3/398-926 (1980).
- 8 .-Buckley J.T. "Secretion and mechanism of action of the forming toxin aerolysin". Experientia 47/5/418-420 (1991).
- 9 .-Burke V., Cooper M., Robinson J., Gracey M., Lesmana M., Echeverria P., Janda J.M. "Haemagglutination patterns of *Aeromonas* spp in relation to biotype and source". J. Clin. Microbiol. 19/1/39-43 (1984).
- 10.-Burke .V., Gracey M., Robinson J., Peck D., Beaman J., Bundell C. "The microbiology of childhood gastroenteritis: *Aeromonas* species and other infective agents". J. Infect. Dis. 148/1/68-74 (1983).

- 11.-Burke V., Robinson J., Atkinson H.M. Gracey M. "Biochemical characteristics of enterotoxigenic *Aeromonas spp*". J. Clin. Microbiol. 15/1/48/52 (1982).
- 12.-Burke V., Robinson J., Beaman J., Gracey M., Lesmana M., Rockhill R., Echeverria P., Janda M. "Correlation of enterotoxigenicity with biotype in *Aeromonas spp*". J. Clin. Microbiol. 18/5/1196-1200 (1983).
- 13.-Carnahan A.M., Joseph S.W. "*Aeromonas* update: new species and global distribution". Experientia 47/5/402-403 (1991).
- 14.-Chacraborty T., Huhle B., Hoff H., Bergbauer H., Goebel W. "Marker exchange mutagenesis of the aerolysin determinant in *Aeromonas hydrophila* demonstrates the role of aerolysin-associated systemic infections". Infect. Immun. 55/9/2274-2280 (1987).
- 15.-Colwell R. R., Mc Donell M.T. "Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam". no. Int. J. Syst. Bacteriol. 18/1/473-477 (1986).
- 16.-Cumbertbatch N., Gurwith M.J., Langston C., Sack R.B. Brunton G. L. "Cytotoxic enterotoxin produced bu *Aeromonas hydrophila*, relationship of toxigenic isolates to diarrheal disease". Infect. Immun. 23/3/829-837 (1989).
- 17.-Deodhar L.P., Saraswathi K., Varudkar A. "*Aeromonas spp* and their association with human diarrheal disease". J. Clin. Microbiol. 29/5/853-856 (1991).
- 18.-Dooley J.S.G., Lallier R., Shaw D.H., Trust T.J. "Electrophoretic and immunochemical analysis of lipopolisacharides from various strains of *Aeromonas hydrophila*". J. Bacteriol. 164/1/263/269 (1985).
- 19.-Dooley J.S.G., McCubbin W.D., Kay C. M., Trust T.J. "Isolation and biochemical characterization of the S-layer protein from a pathogenic *Aeromonas hydrophila* strain". J. Bacteriol. 170/6/2631-2638 (1988).
- 20.-Figura N., Cuglielmetti P. "Diferentiation of motile and mesophilic *Aeromonas* strains into species by testing for a CAMP-like factor". J. Clin. Microbiol. 26/5/1341-1342 (1987).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 21.-Gracey M., Burke V. "*Aeromonas*-associated gastroenteritis". Lancet 11/11/1304-1306 (1982).
- 22.-Gracey M. D, Burke V., Robinson J., Master P.L., Stewart J., Pearman J. "*Aeromonas spp* in travellers diarrhoea ". Br. Med. J. 289/64/658 (1984).
- 23.-Gluskin I., Batash d., Shosev D., Mor A., Kasak R., Azizi E., Boldur I. "A 15-year study of the role of *Aeromonas spp* in gastroenteritis in hospitalized children". J. Med. Microbiol. 37/3/315-318 (1992).
- 24.-Hirst T., Lecce R. "The phenomenon of toxin secretion by vibrios and aeromonads". Experientia 47/5/429-431 (1991).
- 25.-Holmberg S., Farmer III J. "*Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides* as causes of intestinal infections". Rev. Infect. Dis. 6/5/633/639 (1984).
- 26.-Houston C.W., Campell J.D., Genaux C., Koo F.C.W., Kurosky A. "Purification and characterization of cholera-toxin crossreactive factor produced by *Aeromonas hydrophila*". J. Bacteriol. 158/2/30 (1984).
- 27.-Houston C.W., Chopra A.K., Rose J.M., Kurosky A. "Review of *Aeromonas enterotoxin*". Experientia 47/5/424-426 (1991).
- 28.-Howard S.P., Buckley J.T. "Phospholipid and lipopolisaccharides of *Aeromonas hydrophila*". J. Bacteriol. 154/1/413-418 (1993).
- 29.-Hunt L.K., Overman T.L., Otero R. B. "Role of pH in oxidase variability of *Aeromonas hydrophila*". J. Clin. Microbiol. 13/6/1054-1059 (1981).
- 30.-Kelly M.T., Stroh E.M.D., Jessop J. "Comparison of blood agar, ampicilin blood agar, MacConkey ampicillin-tween agar, and modified cefsulodin-irgasan-novobiocin agar for isolation of *Aeromonas spp* from stool specimens". J. Clin. Microbiol 26/2/1738-1740 (1988).
- 31.-Kindschuh M., Pickering L.K., Cleary T.G., Ruiz-Palacios "Clinical and biochemical significance of toxin production by *Aeromonas hydrophila*" J. Clin. Microbiol. 25/5/916-921 (1987).

FALLA DE ORIGEN

- 32.-Kostrzynska M., Dooley J.S., Shimoto T., Sakata T., Trust T. "Antigenic diversity of the S-layer protein from pathogenic strain of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* biotype *sobria*". J. Bacteriol. 174/1/40-47 (1992).
- 33.-Kuijper E.J., Peeters M.F. "Bacteriological and clinical aspects of *Aeromonas*-associated diarrhea in the Netherlands". Experientia 47/5/432-434 (1991).
- 34.-Kuijper E.J., Steigerwatt A.G., Schoenmakers B.S., Peeters M.F., Zanen H.C., Brenner D.J. "Phenotypic characterization and DNA relatedness in human fecal isolated of *Aeromonas* spp". J. Clin. Microbiol. 27/1/132-138 (1989).
- 35.-Lallier R. "Antigenic differentiation of pili from non-virulent and fish-pathogenic strain of *Aeromonas hydrophila*". J. Fish Dis. 7/6/509/512 (1984).
- 36.-Leung K.Y., Stevenson R.V. "Characterization and distribution of extracellular protease from *Aeromonas hydrophila*". J. Gen. Microbiol. 134/2/151-160 (1988).
- 37.-Ljungh A., Wadström T. "*Aeromonas* toxin". Pharmac. Ther. 15/2/339-354 (1982).
- 38.-Massad G., Arceneaux J.E., "Acquisition of iron from host sources by mesophilic *Aeromonas* species". J. Gen. Microbiol. 137/2/237/241 (1991).
- 39.-Michon F., Shaw D.J., Banoub J.H. "Structural of the lipopolysaccharide core isolated from a human strain of *Aeromonas hydrophila*". Eur. J. Biochem. 145/2/107-114 (1984).
- 40.-Millership S.E., Barer M.R., Tabaqchali S. "Toxin production by *Aeromonas* spp from different sources". J. Med. Microbiol. 22/2/311-314 (1986).
- 41.-Millership S.E., Chattopadhyay B. "Methods for isolation of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides* from faeces". J. Hyg. Camb. 92/2/145-152 (1984).
- 42.-Misra S.k., Bhadra R.K., Pal S.C., Balakrish N.G. "Growth of *Aeromonas* spp on Butzler *Campylobacter* selective agar and evaluation of the agar for the primary isolation of *Aeromonas* spp from clinical specimens". J. Clin Microbiol

- 27/2/346-347 (1989).
- 43.-Morena M., Rong V., Singh K., Brian M., Murray B. "Diarrhea associated with *Aeromonas* species in children in day care centers". J. Infect. Dis. 168/2/215-218 (1993).
- 44.-Morita K., Watanabe N., Kurita S., Kanamori M. " β -lactam resistance of motile *Aeromonas* isolates from clinical and environmental sources". Antimicrob. Agents Chemother 38/2/353-355 (1994).
- 45.-Mouldsdale M.T. "Isolation of *Aeromonas* from faeces". Lancet 1/8320/351 (1983).
- 46.-Nishikawa Y., Hase A., Ogawara J., Scotland S.M., Smith H.R., Kimura T. "Adhesion and invasion of human colon carcinoma Caco-2 cells by *Aeromonas* strains". J. Med. Microbiol. 40/2/-55-61 (1994).
- 47.-Ogunsanya T., Rotimi V., Adenuga A. "A study of aetiological agents of childhood diarrhoeae in Lagos Nigeria". J. Med. Microbiol. 40/2/10-14 (1994).
- 48.-Pazzaglia G., Sack R.B., Salazar E., Yi A., Clea E., Leon-Barur R., Guerrero C.E., Palomino J. "High frequency of coinfecting enteropathogens in *aeromonas*-associated diarrhea of hospitalized peruvian infants" J. Clin. Microbiol. 29/6/1151-1156 (1991)
- 49.-Peduzzi R., Meuron P.A., Grimaldi E. "Investigation of *Aeromonas* isolated from water: a serological study Ducchterlony immunoelectrophoresis techniques". Experientia 39/8/924-926 (1983).
- 50.-Pitaragsi C., Echeverria P., Whitemire R., Tirapat C., Formal S., Dammin G.J., Tingtalpong M. "Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*: prevalence among individual with and without diarrhea in Thailand". Infect. Immun. 35/2/666-673 (1982).
- 51.-Popof M. Y. "A taxonomic study of the *Aeromonas hydrophila*-*Aeromona punctata* group". J. Gen. Microbiol. 94/2/11-22 (1976).
- 52.-Popof M.Y.

BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY

Vol. I Genus III *Aeromonas*

Williams & Wilkins Co.

Baltimore (1984)

- 53.-Popof M. Y., Coynault C., Kiredjian M., Lemelin M.
"Polynucleotide sequence relatedness among motile *Aeromonas*
species". *Curr. Microbiol.* 5/2/109-114 (1981).
- 54.-Rahman A.F.M., Willoughby J.M.T. "Dysentery-like associated
with *Aeromonas hydrophila*". *Br. Med. J.* 28/2/976-977 (1980).
- 55.-Robinson J., Burke V., Worthy P.J., Wagner L. "Media for
isolation of *Aeromonas spp* from faeces". *J. Med. Microbiol.*
18/3/405-411 (1984).
- 56.-Singh D.V., Sanyal S.C. "Production of haemolysin and its
correlation with enterotoxicity in *Aeromonas spp*". *J. Med.*
Microbiol. 37/21/262-267 (1992).
- 57.-Singh D.V., Sanyal S.C. "Haemagglutinating activity serum
sensitivity and enteropatogenicity of *Aeromonas spp*". *J. Med.*
Microbiol. 38/2/49-53 (1993).
- 58.-Schubert R.H. "The taxonomy and nomenclature of psycotropic
aeromonads". *Experientia* 47/5/4406-409 (1991).
- 59.-Schubert R.H.

BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY

8th. Edition Genus II *Aeromonas*

Williams & Wilkins Co.

Baltimore (1974)

- 60.-Thomas S., Aistin J.W., McCibbin W.D., Kay C.M., Trevor J.T.
"Role of Structural domains in the morphology and surface
anchoring of the tetragonal paracrystalline array of
Aeromonas hydrophila" *J. Mol. Biol.* 228/2/652-661 (1992).
- 61.-Turnbull P.C.B., Lee J.V., Milliots M.D., Van Walls
D., Koornhof H.J., Jeffery L., Bryant T.N "Enterotoxin
production in relation to taxonomic grouping and source of
isolation of *Aeromonas* species". *J. Clin. Microbiol.*
19/2/175-180 (1984).
- 62.-Vadivelu J., Puthucheary S.D., Navaratnam P. "Exotoxin

- profiles of clinical isolation of *Aeromonas hydrophila*". J. Med. Microbiol. 35/2/363-367 (1991).
- 63.-Vander Kooji D. "Nutritional requirements of aeromonads and their multiplication in drinking water". Experientia 47/5/444-446 (1991).
- 64.-Von Graevenitz A., Bucker C. "Evaluation of differential and selective media for isolation of *Aeromonas* and *Plesiomonas* spp from human faeces". J. Clin. Microbiol. 17/1/16-21 (1983).
- 65.-Waltman W.D., Shotts E.B., Ta-Chuan H. "Enzymatic characterization of *Aeromonas hydrophila* complex by API ZYM system" J. Clin. Microbiol. 16/4/692-696 (1988).
- 66.-Zywno S.R., Arceneaux J.C., Altwegg M., Byers B.R. "Siderophore production and DNA hybridization groups of *Aeromonas* spp" J. Clin. Microbiol. 30/3/619-622 (1992).

FALLA DE ORIGEN